

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
11 janvier 2001 (11.01.2001)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 01/01785 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷: A23C 9/123

(FR). GONTIER, Charles [FR/FR]; 8 bis, rue Aliénor
d'Aquitaine, F-19360 Malemort-sur-Corrèze (FR).

(21) Numéro de la demande internationale:
PCT/FR00/01946

(74) Mandataires: VIALLE-PRESLES, Marie-José etc.;
Cabinet Orès, 6, avenue de Messine, F-75008 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international: 6 juillet 2000 (06.07.2000)

(81) États désignés (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO,
NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(25) Langue de dépôt: français

(26) Langue de publication: français

(30) Données relatives à la priorité:
99/08691 6 juillet 1999 (06.07.1999) FR

(84) États désignés (*régional*): brevet ARIPO (GH, GM, KE,
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*): COM-
PAGNIE GERVAIS DANONE [FR/FR]; 126-130, rue
Jules Guesde, F-92302 Levallois-Perret (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*): BLAREAU,
Jean-Pierre [FR/FR]; 65, rue de Cassel, F-59114 Steenvo-
orde (FR). ROMOND, Marie-Bénédicte [FR/FR]; 13-14,
résidence des Andély, Parc St Maur, F-59800 Lille (FR).
ROMOND, Charles [FR/FR]; 21, avenue du Maréchal
Leclerc, F-59110 La Madeleine (FR). LECROIX, Francis
[FR/FR]; 244, rue Henri Bailleu, F-59270 Godewaersvelde

Publiée:

— Avec rapport de recherche internationale.

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: METHOD FOR THE PRODUCTION OF AN IMMUNOSTIMULANT MILK PRODUCT AND USES THEREOF

(54) Titre: PROCEDE DE PREPARATION D'UN PRODUIT LACTE IMMUNOSTIMULANT ET SES APPLICATIONS

(57) Abstract: A method for the production of an immunostimulant milk product, characterized in that bioconversion is carried out on or a milk substrate with the aid of a *Bifidobacterium* culture by keeping said substrate in contact with said culture in conditions which are unfavorable with respect to the fermentation of *Bifidobacterium*. The invention also relates to milk foods and products obtained by said method.

(57) Abrégé: Procédé de préparation d'un produit lacté immunostimulant, caractérisé en ce que l'on effectue la bioconversion d'un substrat laitier à l'aide d'une culture de *Bifidobacterium*, par maintien dudit substrat en contact avec ladite culture, dans des conditions défavorables à la fermentation par *Bifidobacterium*. Produits et aliments lactés obtenus à l'aide dudit procédé.



WO 01/01785 A1

PROCÉDÉ DE PRÉPARATION D'UN PRODUIT LACTÉ IMMUNOSTIMULANT
ET SES APPLICATIONS

La présente invention est relative à l'utilisation de bifidobactéries pour la préparation
5 d'aliments lactés immunostimulants convenant en particulier à l'alimentation infantile : aliments pouvant être sous forme liquide ou poudre.

Le genre *Bifidobacterium* fait partie de la famille des *Actinomycetaceae* ; il regroupe des bacilles à
10 Gram positif, anaérobies stricts, fermentant le glucose par la voie de la fructose 6-phosphate phosphocétolase. Leur pH optimal de croissance est compris entre 6 et 7, et leur température optimale de croissance est comprise entre 37 et 40°C.

15 Les bifidobactéries font partie de la flore intestinale humaine normale, et on leur reconnaît de nombreux effets bénéfiques pour la santé. Il est notamment connu que les nourrissons alimentés au sein, qui possèdent une flore intestinale dans laquelle les
20 bifidobactéries prédominent, résistent mieux aux infections et présentent notamment un risque de diarrhée plus faible que les nourrissons nourris avec des préparations lactées industrielles.

Le rôle des bifidobactéries dans cette
25 résistance accrue aux infections n'a pas été complètement élucidé. Différentes études indiquent qu'elles possèdent un pouvoir immunostimulant qui impliquerait des substances polysaccharidique associées à la paroi bactérienne, ou sécrétées par les bactéries au cours de
30 la fermentation anaérobie GOMEZ et al., [FEMS Microbiol. Lett., 56, 47-52, (1988), décrivent l'effet immunomodulateur de fractions exocellulaires riches en polysaccharides produites par *Bifidobacterium adolescentis* ; la Demande FR publiée sous le numéro
35 2652590, au nom des Laboratoires OM, décrit un exopolymère immunopotentiateur de nature

polysaccharidique produit par *Bifidobacterium infantis longum* ; HOSONO et al., [Biosci. Biotech. Biochem., 61, 312-316 (1997) et Bioscience Microflora, 17, 97-104, (1998), décrivent des polysaccharides immunopotentiateurs
5 produits par différentes espèces de *Bifidobacterium*. L'action immunomodulatrice des bifidobactéries se manifeste également par la régulation de la microflore intestinale, en particulier au détriment du développement d'espèces bactériennes pathogènes. ROMOND et al.
10 [Anaerobe, 3, 137-143, (1997), et J. Dairy Sci., 81, 1229-1235, (1998)] décrivent ainsi des fractions riches en glycoprotéines, produites par *Bifidobacterium breve* en conditions de fermentation anaérobie, et induisant *in vivo* un effet régulateur de la microflore intestinale.

15 On trouve sur le marché de nombreux produits fermentés par des bifidobactéries, éventuellement associées à d'autres bactéries lactiques, et dont l'ingestion permet de bénéficier des effets immunostimulants des bifidobactéries et de leurs produits
20 de fermentation.

Dans le cas de l'alimentation infantile, cependant, ceux-ci ont l'inconvénient d'être trop acides et de présenter, notamment dans le cas des produits en poudre, un aspect non-homogène après reconstitution, du
25 fait de la coagulation des protéines du lait par l'acidité générée lors de la fermentation. Ils sont donc parfois mal acceptés par l'enfant et par la mère.

Or, les Inventeurs ont maintenant découvert que la production par des bifidobactéries, de substances
30 dotées de propriétés immunostimulantes pouvait s'effectuer sans fermentation, et donc sans acidification du produit final.

La présente Invention a pour objet un procédé de préparation d'un produit lacté immunostimulant,
35 caractérisé en ce que l'on effectue la bioconversion d'un substrat laitier à l'aide d'une culture de

Bifidobacterium, par maintien dudit substrat en contact avec ladite culture, dans des conditions défavorables à la fermentation par *Bifidobacterium*.

On définit par « conditions défavorables à la fermentation par *Bifidobacterium* » des conditions dans lesquelles l'acidification du milieu par *Bifidobacterium* n'excède pas 0,5 unités pH en 8 heures d'incubation pour un ensemencement initial 1 à 5×10^7 UFC par ml. Elles peuvent aisément être déterminées par l'homme de l'art à l'aide de simples essais, en faisant varier notamment l'aération du milieu de culture, sa pression osmotique et/ou la température de culture, et en mesurant le pH en début et en fin de culture.

Pour un grand nombre de souches de *Bifidobacterium*, de telles conditions peuvent notamment être obtenues par :

- le maintien en conditions aérobies, par exemple sous agitation ;
- le maintien du milieu à une pression osmotique correspondant à 0,93 à 0,97 d'activité de l'eau (AW) ;
- le maintien à une température de 40 à 48°C ;

ainsi que des combinaisons de ces différentes conditions.

La mise en contact du substrat laitier et des *Bifidobacterium* peut être effectuée à raison de 1×10^7 à 1×10^9 UFC par ml de substrat laitier, et la population finale de *Bifidobacterium* à l'issue de la réaction de bioconversion est de 1×10^5 à 1×10^9 UFC par ml de produit.

Le pH du substrat laitier lors de la mise en contact avec les bactéries est de préférence de 6,3 à 7 et le pH du produit à l'issue de la réaction de bioconversion est préférentiellement de 6 à 7.

Selon les conditions utilisées, le temps de contact entre le substrat laitier et les bactéries sera de 6 à 24 heures.

5 Le substrat laitier peut être du lait, ou tout milieu à base de lait ; il peut s'agir par exemple d'un concentré de lait, d'une base pour aliment lacté infantile, d'une base pour yoghourt, etc...

10 On peut ajouter au milieu à base de lait les ingrédients nécessaires à la réalisation du produit prêt à consommer que l'on souhaite obtenir. Si par exemple on souhaite obtenir un aliment lacté pour nourrissons, on ajoutera du lactose, des malto-dextrines, des minéraux, des vitamines, des matières grasses, les ingrédients permettant de reconstituer la composition du lait maternel.

15 Si on le souhaite, les matières grasses sont incorporées, puis homogénéisées avec la solution de manière à obtenir une émulsion stable.

20 Une souche de *Bifidobacterium breve* convenant particulièrement à la mise en œuvre de l'invention, a été déposée selon le Traité de Budapest, le 31 mai 1999, sous le numéro I-2219 auprès de la CNCM (Collection Nationale de Cultures de Microorganismes) tenue par l'Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, à Paris.

25 Cette souche possède les caractéristiques suivantes :

Morphologie : bacilles courts avec rares formes en Y et V

Métabolisme : anaérobie ; production d'acides acétique et lactique L(+)

30 Fermentation des sucres : glucose, galactose, fructose, maltose, saccharose, lactose, esculine, ribose, mannitol, sorbitol, D raffinose, mélibiose.

La présente invention a également pour objet un produit lacté liquide caractérisé en ce qu'il peut être obtenu en mettant en œuvre un procédé conforme à l'invention.

35

Ce produit présente de préférence, à l'issue de la réaction de bioconversion, un pH de 6 à 7.

A titre de comparaison, les produits de l'art antérieur obtenus par fermentation par *Bifidobacterium* ont, en fin de fermentation un pH de 4 à 4,6.

Ce produit peut être consommé tel quel, ou subir différents traitements, dont la nature varie selon le produit prêt à consommer que l'on souhaite obtenir. Il peut par exemple être additionné d'agents de texture, de saveur, de suppléments vitaminiques ou minéraux, de matières grasses, etc..., si ceux-ci n'ont pas été ajoutés dans le milieu initial. Il peut également être concentré ou dilué.

Un produit lacté conforme à l'invention peut servir de base pour la préparation d'aliments lactés frais.

Avantageusement, il peut également être utilisé pour la préparation, par stérilisation et/ou déshydratation, d'aliments de longue conservation. En effet, il conserve ses propriétés immunostimulantes même en l'absence de bactéries vivantes, par exemple après dessiccation et stérilisation UHT.

La présente invention englobe également les aliments lactés frais, stérilisés, ou déshydratés obtenus à partir d'un produit lacté conforme à l'invention.

Elle englobe aussi les aliments lactés reconstitués obtenus par addition d'eau aux aliments lactés déshydratés conformes à l'invention.

Les aliments lactés (frais, stérilisés, ou reconstitués) conformes à l'invention ont généralement un pH de 6 à 7,5, de préférence de 6,5 à 6,9.

Contrairement aux aliments résultant de la fermentation par *Bifidobacterium* connus dans l'art antérieur, les aliments lactés conformes à l'invention ne sont pas acides, et contiennent les protéines du lait sous forme soluble, non-coagulée. Par addition d'eau aux

aliments lactés déshydratés conformes à l'invention on peut ainsi obtenir un produit homogène, sans précipitation ou séparation de phase.

Les aliments lactés conformes à l'invention, de par leur effet immunostimulant, confèrent une protection contre les infections microbiennes et virales comparable à celle des aliments résultant de la fermentation par *Bifidobactérium* connus dans l'art antérieur, sans présenter les inconvénients de ces derniers en termes de modification du goût et de l'aspect du produit. Ils sont particulièrement bien adaptés à l'alimentation infantile, et notamment à l'alimentation des nourrissons, mais peuvent également être utilisés pour l'alimentation de sujets de tous âges.

La présente invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de préparation de produits lactés conformes à l'invention.

EXEMPLE 1 : FABRICATION D'UNE PREPARATION LACTEE DIETETIQUE POUR NOURRISSONS, EN POUDRE, A ACTIVITE IMMUNOSTIMULANTE

On prépare un concentré de lait, dont la composition, exprimée en g pour 100 g de matières sèches, est la suivante :

25	Protéines de lait (80% de caséine et 20% de protéines de sérum)	13
	Matière grasse végétale	25,5
	Lactose	42,25
	Malto-Dextrines	16
30	Minéraux	3
	Vitamines 0,25	

On ajoute la matière grasse végétale à un lait de vache écrémé, chauffé à 75°C. On homogénéise à la même température en 2 étapes, la première sous 200 kgs/cm², la seconde sous 50 kgs/cm². On ajoute ensuite le lactose et les malto-dextrines, préalablement mis en solution dans l'eau, puis les solutions de vitamines et de minéraux.

Le mélange final est pasteurisé à 115°C, puis concentré par évaporation à 48% de matière sèche.

Le concentré refroidi à 37°C est ensuite ensemencé à raison de 5% avec une culture de *B. breve* I-2219 contenant 10⁹ bactéries/ml. Le pH initial est de 6,15 et la pression osmotique est de 0,96.

Après incubation pendant 8 h à 37°C, dans un tank sous air avec agitation périodique 10 minutes toutes les 2 heures, le pH est de 6,1 et la population de *B. breve* est de 10⁶ bactéries/ml. L'acidité Dornic est de 48°D.

Le concentré est séché par atomisation. La poudre obtenue, additionnée à de l'eau à raison de 140 g pour un litre d'eau permet d'obtenir un lait reconstitué qui possède les caractéristiques suivantes : pH 6,6, acidité Dornic 12°D ; aspect de lait liquide sans grains de caillé.

EXEMPLE 2 : FABRICATION D'UNE PREPARATION LACTEE DIETETIQUE POUR NOURRISSONS, A ACTIVITE IMMUNOSTIMULANTE, PRETE A L'EMPLOI, STERILISEE UHT ET CONDITIONNEE ASEPTIQUEMENT

On prépare un mélange dont la composition (en g/litre), est la suivante :

Protéines	21
25 Matière grasse	24
Glucides	83
Minéraux	5
Vitamines	0,45

Ce mélange est préparé à partir des ingrédients suivants (pour 100 litres de produit fini) :

- 58 litres de lait écrémé,
- 2,4 kgs de matière grasse,
- 4,7 kgs de lactose,
- 0,7 kgs de malto-dextrines,
- 35 - 0,3 kg de vitamines,
- 0,05 kg un complexe minéral.

Le lait est au préalable traité thermiquement en système UHT à une température de 115 à 120°C.

Dans le lait refroidi à 70°C, on incorpore la matière grasse et on procède à une homogénéisation en 2 étapes, 200 kgs/ au cours de la 1^{ère} étape, 50 kgs à la 2^{ème} étape.

Le mélange est refroidi à 37 - 38°C, puisensemencé à 1,5% avec une culture de CNCM I-2219 contenant 1 à 5 x 10⁹ bactéries/ml.

On incube à 37°C pendant 8 heures dans les conditions indiquées à l'exemple 1 ci-dessus, puis on procède au refroidissement, à 5°C.

Le pH du produit est de 6,3 et la population de *B. breve* est de 3 x 10⁷ bactéries/ml. L'acidité Dornic est de 23°D.

Le reste des ingrédients est dissout dans 50 litres d'eau d'environ puis ajouté au produit obtenu à l'issue de l'incubation.

Le mélange ainsi réalisé est soumis à un traitement UHT à 140°C pendant 6 à 7 secondes avant d'être conditionné aseptiquement.

EXEMPLE 3 : EFFET IMMUNOSTIMULANT DE PRODUITS LACTES CONFORMES A L'INVENTION

L'effet immunostimulant des préparations lactées conformes à l'invention a été étudié comme suit :

- par l'évolution de flore fécale sur des souris à flore humaine ;
- par la régulation du phénomène de translocation sur des souris monoxéniques à *Clostridium perfringens*.

Etudes de l'évolution de la flore fécale chez les souris à flore humaine :

Les souris sont de la lignée C3H à flore humaine adulte.

Il s'agit de la génération G1, la génération G0 étant des souris axéniques associées à l'âge adulte à la flore humaine.

- Nombre de souris par lot : 6
- Nombre d'essais : 2 par produit.

Les souris sont gardées 1 semaine dans une même cage puis réparties à raison de 6 par cage.

L'âge des souris au début des essais est de 8 semaines minimum à 11 semaines maximum.

Seront suivis dans la flore fécale :

- les Bifidobactéries
- les *Bactéroïdes Fragilis*
- les spores de *Clostridia*
- les spores de *Cl. perfringens* éventuellement

Techniques microbiologiques

L'échantillon fécal est prélevé extemporanément, pesé aseptiquement et dilué en solution préréduite de RINGER (diluée au quart et supplémentée en chlorhydrate de cystéine à 0,3 g/l).

Dénombrement des bifidobactéries et des bactéroïdes fragilis sur milieux préréduits de BEERENS et BBE ensemencés directement et incubés en anaérobiose.

Pour la recherche des spores de *Clostridium* :

- les suspensions sont chauffées 10 minutes à 75°C et ensemencées sur gélose Columbia supplémentée en glucose (5 g/l) et chlorhydrate de cystéine (0,3 g/l) et incubées 5 jours,

- les colonies de *Clostridium* sont repérées par leur morphologie et une réaction négative à la catalase. La morphologie cellulaire est déterminée après coloration Gram 3.

Les Résultats obtenus avec une préparation lactée témoin ayant été ensemencée avec le ferment CNCM I-2219 et administrée immédiatement sont illustrés par le Tableau I ci-dessous (temps de contact = 0)

Tableau I

	T O	T 7 jours	T 15 jours
Bifidobactéries	$8,2 \pm 0,3$	$9,3 \pm 0,1$	$8,6 \pm 0,1$
Bactéroïdes Fragilis	$7,2 \pm 0,5$	$9,3 \pm 0,1$	$9,2 \pm 0,1$
Clostridium	$4,3 \pm 0,1$	$5,1 \pm 0,5$	$6,7 \pm 0,3$

Les résultats sont exprimés en log. et les chiffres représentent la moyenne des résultats des 6 souris ; on constate une augmentation significative de *Bactéroïdes Fragilis* et des *Clostridia*, d'où un risque infectieux.

Les résultats obtenus avec une préparation lactée conforme à l'invention,ensemencée et ayant subi un contact de 8 heures à 37°C avec CNCM I-2219 sont illustrés par le Tableau II ci-dessous.

Tableau II

	T O	T 7 jours	T 15 jours
Bifidobactéries	$7,1 \pm 0,1$	$11 \pm 0,5$	$10,3 \pm 0,8$
Bactéroïdes Fragilis	$8 \pm 0,2$	$7,9 \pm 0,3$	nd < 4,7 log
Clostridium	$3,9 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,2$	4 (1 souris) 5 autres : absence
C. Perfringens	$3,7 \pm 0,9$	nd	nd

nd : non déterminé

On constate, par rapport au témoin, une augmentation des Bifidobactéries de 2,5 log et une réduction très importante des Bactéroïdes et des *Clostridia*, notamment après 15 jours d'administration.

Études sur souris monoxéniques à *Clostridium perfringens* :

Objectif : vérifier l'influence des produits conformes à l'invention sur la dissémination des bactéries intestinales dans différents organes.

Condition d'expérimentation : souris axéniques (âge = 8 semaines) maintenues en isolateur stérilisé, alimentées sur la base RO3 stérilisée par irradiation.

Produits testés :

- eau ultrapure stérilisée par autoclavage
- eau ultrapure stérilisée par autoclavage additionnée d'une préparation conforme à l'invention (PCI) à raison de 14 g (poids de poudre) pour 100 ml d'eau.

Ces solutions sont préparées stérilement chaque jour et données *ad libitum* aux souris pendant 6 jours. Au terme de cette période, *C. perfringens* souche LAB (origine humaine intestinale) est inoculé à raison de 3,5 à 4,5 log UFC par souris. On mesure l'implantation et la dissémination de *Clostridium perfringens* dans les organes lymphoïdes par sacrifice de deux souris par lot 24, 48 heures, 4 jours et 7 jours après inoculation. Les dénombrements sont effectués par la méthode du nombre le plus probable à trois tubes en milieu LS (incubation 46°C 24-48 heures).

Les résultats sont illustrés par le Tableau III ci-après :

Tableau III

	J1		J2		J4		J7	
	PCI	eau	PCI	eau	PCI	eau	PCI	eau
Iléon proximal	2	2	0	1	0	2	2	2
Médian	2	0	0	1	0	2	2	2
Distal	2	0	0	1	0	2	2	2
Caecum	2	0	0	2	1	2	2	2
Colon	2	2	0	2	2	2	2	2
Plaques de Peyer	1	1	0	0	1	2	2	2
Ganglions mésentériques	0	2	0	0	1	2	1	2
Bactériémie	0	0	0	0	0	0	0	0
Rate	0	1	0	2	0	2	1	2
Foie	0	0	0	0	1	2	2	2
Rein	0	1	0	2	1	2	1	2
Poumon	0	0	0	0	0	2	0	0

15 Légende du Tableau III :

0 = Faible implantation/dissémination

1 = Implantation/dissémination moyenne

2 = Implantation/dissémination importante

On constate :

20 - un retard d'implantation de 24 heures de *C. perfringens* après administration du produit conforme à l'invention ;

25 - une dissémination dans les organes lymphoïdes faible, chez les souris ayant absorbé le produit conforme à l'invention (PCI).

Ces résultats montrent que les préparations conformes à l'invention régulent la dissémination de *Clostridium perfringens* dans les organes lymphoïdes.

REVENDICATIONS

- 1) Procédé de préparation d'un produit lacté immunostimulant, caractérisé en ce que l'on effectue la bioconversion d'un substrat laitier à l'aide d'une culture de *Bifidobacterium*, par maintien dudit substrat en contact avec ladite culture, dans des conditions défavorables à la fermentation par *Bifidobacterium*.
- 2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la mise en contact du substrat laitier et des *Bifidobacterium* est effectuée à raison de 1×10^7 à 1×10^9 UFC par ml de substrat laitier, et la population finale de *Bifidobacterium* à l'issue de la réaction de bioconversion est de 1×10^5 à 1×10^9 UFC par ml de produit.
- 3) Procédé selon une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que le pH du substrat laitier lors de la mise en contact avec les *Bifidobacterium* est de 6,3 à 7 et le pH du produit à l'issue de la réaction de bioconversion est de 6 à 7.
- 4) Procédé selon une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le temps de contact entre le substrat laitier et les bactéries est de 6 à 24 heures.
- 5) Procédé selon une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'on met en œuvre une culture de *Bifidobacterium* comprenant la souche de *Bifidobacterium breve* déposée le 31 mai 1999, sous le numéro I-2219 auprès de la CNCM.
- 6) Produit lacté caractérisé en ce qu'il est susceptible d'être obtenu par le procédé selon une quelconque des revendications 1 à 5.
- 7) Produit lacté selon la revendication 6, caractérisé en ce que son pH est de 6 à 7.
- 8) Aliment lacté obtenu à partir d'un produit selon la revendication 7.

9) Aliment lacté selon la revendication 8, caractérisé en ce que son pH est de 6 à 7,5, de préférence de 6,5 à 6,9.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/01946

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A23C9/123

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A23C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

WPI Data, EP0-Internal, PAJ, FSTA, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 711 977 A (CHEN MEI-CHING ET AL) 27 January 1998 (1998-01-27) column 6, line 36 - line 39; claims 7-9; examples 2,6 ----	1-9
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 200002 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 2000-021383 XP002132839 & PH 29 583 A (PHAM C B), 1 April 1996 (1996-04-01) abstract ----	1, 3, 4, 6-9
X	FR 2 506 129 A (VERWALTUNG ORGANI ETS) 26 November 1982 (1982-11-26) example I ----	1, 4, 6, 8
A	----- --/--	5, 7

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 September 2000

Date of mailing of the international search report

15/09/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Saunders, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/01946

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 577 904 A (NESTLE SA) 12 January 1994 (1994-01-12) claims 1,5,7,8; examples -----	1,2,6-9
A	US 5 902 578 A (HALPIN-DOHNALEK MARGARET IONE ET AL) 11 May 1999 (1999-05-11) column 4, line 9 - line 12 column 4, line 50 - line 56; claims 1,4 -----	1,2,6-9
A	FR 2 560 046 A (SCHULER RUDOLF) 30 August 1985 (1985-08-30) examples -----	1,3,6-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/01946

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5711977 A	27-01-1998	JP 3017687 B JP 9322762 A	13-03-2000 16-12-1997
PH 29583 A		NONE	
FR 2506129 A	26-11-1982	DE 3120505 A BE 533031 A CA 1166065 A CH 315992 A DE 968860 C FR 1111483 A GB 795345 A JP 1030458 B JP 1547476 C JP 58076045 A NL 93350 C NL 8202045 A,B, US 2866470 A US 4435432 A	09-12-1982 24-04-1984 27-02-1956 20-06-1989 28-02-1990 09-05-1983 16-12-1982 30-12-1958 06-03-1984
EP 0577904 A	12-01-1994	AT 153063 T AT 172245 T AU 673525 B AU 4158793 A CA 2099856 A CZ 9301343 A DE 69219768 D DK 577904 T EP 0768375 A ES 2102485 T FI 933002 A GR 3024219 T HK 1000143 A HU 68567 A IE 80629 B JP 2916350 B JP 6315373 A NO 932408 A NZ 248057 A PL 299542 A RO 115175 A RU 2126446 C SK 71293 A US 5494664 A US 5603930 A	15-05-1997 15-10-1998 14-11-1996 13-01-1994 07-01-1994 16-02-1994 19-06-1997 27-10-1997 16-04-1997 01-08-1997 07-01-1994 31-10-1997 24-12-1997 28-06-1995 21-10-1998 05-07-1999 15-11-1994 07-01-1994 28-08-1995 21-02-1994 30-11-1999 20-02-1999 06-07-1994 27-02-1996 18-02-1997
US 5902578 A	11-05-1999	WO 9735596 A	02-10-1997
FR 2560046 A	30-08-1985	DE 3406772 A CH 665126 A	13-03-1986 29-04-1988

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De de Internationale No
PCT/FR 00/01946

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 A23C9/123		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 A23C		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) WPI Data, EPO-Internal, PAJ, FSTA, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 5 711 977 A (CHEN MEI-CHING ET AL) 27 janvier 1998 (1998-01-27) colonne 6, ligne 36 - ligne 39; revendications 7-9; exemples 2,6 ---	1-9
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 200002 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D13, AN 2000-021383 XP002132839 & PH 29 583 A (PHAM C B), 1 avril 1996 (1996-04-01) abrégé ---	1,3,4, 6-9
X	FR 2 506 129 A (VERWALTUNG ORGANI ETS) 26 novembre 1982 (1982-11-26) exemple I ---	1,4,6,8
A	--- -/--	5,7
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe </div>		
<div style="display: flex;"> <div style="flex: 1;"> <p>* Catégories spéciales de documents cités:</p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="flex: 1;"> <p>"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier</p> <p>"&" document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée <div style="text-align: center; font-weight: bold;">8 septembre 2000</div>		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale <div style="text-align: center; font-weight: bold;">15/09/2000</div>
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé <div style="text-align: center; font-weight: bold;">Saunders, T</div>

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Di ide internationale No
PCT/FR 00/01946

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 577 904 A (NESTLE SA) 12 janvier 1994 (1994-01-12) revendications 1,5,7,8; exemples ---	1,2,6-9
A	US 5 902 578 A (HALPIN-DOHNALEK MARGARET IONE ET AL) 11 mai 1999 (1999-05-11) colonne 4, ligne 9 - ligne 12 colonne 4, ligne 50 - ligne 56; revendications 1,4 ---	1,2,6-9
A	FR 2 560 046 A (SCHULER RUDOLF) 30 août 1985 (1985-08-30) exemples -----	1,3,6-9

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De : de internationale No

PCT/FR 00/01946

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5711977 A	27-01-1998	JP 3017687 B JP 9322762 A	13-03-2000 16-12-1997
PH 29583 A		AUCUN	
FR 2506129 A	26-11-1982	DE 3120505 A BE 533031 A CA 1166065 A CH 315992 A DE 968860 C FR 1111483 A GB 795345 A JP 1030458 B JP 1547476 C JP 58076045 A NL 93350 C NL 8202045 A, B, US 2866470 A US 4435432 A	09-12-1982 24-04-1984 27-02-1956 20-06-1989 28-02-1990 09-05-1983 16-12-1982 30-12-1958 06-03-1984
EP 0577904 A	12-01-1994	AT 153063 T AT 172245 T AU 673525 B AU 4158793 A CA 2099856 A CZ 9301343 A DE 69219768 D DK 577904 T EP 0768375 A ES 2102485 T FI 933002 A GR 3024219 T HK 1000143 A HU 68567 A IE 80629 B JP 2916350 B JP 6315373 A NO 932408 A NZ 248057 A PL 299542 A RO 115175 A RU 2126446 C SK 71293 A US 5494664 A US 5603930 A	15-05-1997 15-10-1998 14-11-1996 13-01-1994 07-01-1994 16-02-1994 19-06-1997 27-10-1997 16-04-1997 01-08-1997 07-01-1994 31-10-1997 24-12-1997 28-06-1995 21-10-1998 05-07-1999 15-11-1994 07-01-1994 28-08-1995 21-02-1994 30-11-1999 20-02-1999 06-07-1994 27-02-1996 18-02-1997
US 5902578 A	11-05-1999	WO 9735596 A	02-10-1997
FR 2560046 A	30-08-1985	DE 3406772 A CH 665126 A	13-03-1986 29-04-1988